Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. med. H.A. Kühn

# Plasma-Konzentrationen des Lysozyms und carcinoembryonalen Antigens (CEA) bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. Klinische Wertigkeit zur Beurteilung der Krankheitsaktivität.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Gregor Schomacher

aus Coesfeld

Würzburg, den 28.08.1980

Aus der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg
Direktor: Prof. Dr. med. H.A. Kühn

# Plasma-Konzentrationen des Lysozyms und carcinoembryonalen Antigens (CEA) bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen.
## Klinische Wertigkeit zur Beurteilung der Krankheitsaktivität.

I n a u g u r a l - D i s s e r t a t i o n

verfaßt und der

Hohen Medizinischen Fakultät

der

Julius-Maximilians-Universität Würzburg

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

vorgelegt von

Gregor Schomacher

aus Coesfeld

Würzburg, den 28.08.1980

| | |
|---|---|
| Referent: | Privatdozent Dr. med. J. Auer |
| Korreferent: | Professor Dr. med. H.A. Kühn |
| Dekan: | Professor Dr. med. K.-H. Wulf |

Tag der mündlichen Prüfung: 19.12.1980

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät der
Universität Würzburg

Meinen Eltern in Dankbarkeit

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41543512_0143

GLIEDERUNG


1.0 Einleitung
2.0 Allgemeine Einführung
3.0 Spezielle Fragestellung
4.0 Methodik
5.0 Kollektive
6.0 Ergebnisse
6.1 Lysozym- und CEA-Konzentrationen in den Kollektiven
6.1.1 Konzentrationen bei gesunden Kontrollpersonen
6.1.2 Konzentrationen bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen
6.2 CEA- und Lysozym-Konzentrationen in Abhängigkeit von der Aktivität der Erkrankung
6.2.1 Lysozym-Konzentrationen bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen in Abhängigkeit vom Aktivitätsindex
6.2.2 CEA-Konzentrationen in den Kollektiven in Abhängigkeit vom Aktivitätsindex
6.2.3 Korrelation zwischen Lysozym bzw. CEA und dem Aktivitätsindex
6.2.4 Korrelation zwischen der Höhe der BSG und der Aktivität der Erkrankung
6.3 Korrelation zwischen der Höhe des Plasma-Lysozym-Spiegels und der des Plasma-CEA-Spiegels
6.4 Summe von CEA und Lysozym in Abhängigkeit von der Aktivität der Erkrankung
6.5 Lysozym- und CEA-Plasma-Spiegel in Abhängigkeit von der Ausdehnung der Erkrankung bei Colitis-ulcerosa-Patienten

6.6 Höhe der BSG in Abhängigkeit vom Lysozym- bzw. CEA-Plasma-Spiegel
7.0 Diskussion
7.1 Lysozym in Korrelation zum Aktivitäts-index
7.2 CEA in Korrelation zum Aktivitätsindex
8.0 Zusammenfassung
9.0 Literaturverzeichnis

## 1.0 EINLEITUNG

Erhöhungen des Plasma-Lysozym-Spiegels (PLS) bei granulomatösen Erkrankungen wie der Sarkoidose (Pascual et al., 1973) und der Tuberkulose (Perillie et al., 1973) veranlaßten Falchuck et al. (1975a), das Verhalten des PLS bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen zu untersuchen. Dabei fanden sie eine signifikante Erhöhung des PLS bei Patienten mit M. Crohn, einer granulomatösen chronisch entzündlichen Darmerkrankung, gegenüber Patienten mit Colitis ulcerosa oder gesunden Kontrollpersonen. Sie glaubten daher, den PLS zur Differentialdiagnose von M. Crohn und Colitis ulcerosa heranziehen zu können.
Die selben Autoren (Falchuck et al., 1975b) berichteten, daß sich mit der Höhe des PLS eine Aussage über den Aktivitätsgrad bei der Crohnschen Erkrankung machen läßt.
Die Ergebnisse von Falchuck et al. konnten Röllinghoff et al. (1977) nicht bestätigen. Sie fanden einen signifikanten Unterschied weder in der Höhe des PLS bei Patienten mit M. Crohn gegenüber solchen mit Colitis ulcerosa, noch konnten sie die Aussage Falchucks bestätigen, daß die Höhe des PLS mit der Aktivität einer Crohnschen Erkrankung korreliert.

Neben diesem durch das entzündliche Infiltrat hervorgerufenen direkten Entzündungsparameter der Plasma-Lysozymkonzentration steht in der Plasmakonzentration des Carcinoembryonalen Antigens (CEA) ein indirekter Entzündungsparameter zur Verfügung, der durch das Ausmaß der Epithelregeneration bei diesen chronisch entzündlichen Darmerkrankungen beeinflußt wird.

Untersuchungen von Auer et al. (1976) zeigten, daß mit Hilfe des CEA eine Kontrolle der Aktivität bei M. Crohn und Colitis ulcerosa möglich ist, wenn man die Ausdehnung der Erkrankung berücksichtigt.
Sowohl der Widerspruch über die klinische Aussagekraft des PLS bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen als auch die Überlegung, durch die Kombination eines Infiltrat- mit einem Epithelparameter der Entzündung eine sicherere klinische Aussage hinsichtlich der Diagnose sowie der Beurteilung der Aktivität zu erhalten, veranlaßte uns, eine Untersuchung des PLS bei Patienten mit M. Crohn und Colitis ulcerosa sowie bei gesunden Kontrollpersonen durchzuführen.

## 2.0 ALLGEMEINE EINFÜHRUNG

Schon 1922 entdeckten Fleming und Allison das Lysozym im Nasensekret des Menschen. Es findet sich aber auch in anderen menschlichen Sekreten, so im Magensekret und in besonders hoher Aktivität in der Tränenflüssigkeit und im Speichel. In hoher Konzentration läßt es sich auch im Hühnereiweiß nachweisen.
Zellulär gebunden findet sich das Lysozym vor allem in granulierten Zellen der myeloischen Reihe und in Monozyten, fehlt dagegen in den Lymphozyten.
Das Lysozym läßt sich intrazellulär in den Lysosomen nachweisen.
Der Normalplasmaspiegel des Lysozyms wird überwiegend durch die Enzymfreisetzung beim Abbau von neutrophilen Granulozyten bestimmt.
Die bakteriolytische Wirkung des Lysozyms beruht auf seiner Fähigkeit, N-Acetylglukosamin- und N-Acetylmuraminsäure-Bindungen im Murein der Zellwand vor allem grampositiver Bakterien zu spalten.
Biochemisch ist das Lysozym eine Hydrolase, die auf Grund ihrer Basizität (isoelektrischer Punkt bei 10,5) zu den kationischen Proteinen gehört, mit einem Molekulargewicht zwischen 14000 und 15000.
Obwohl das menschliche Lysozym und das Hühnereiklarenzym eine sehr ähnliche Struktur ihrer aktiven Zentren aufweisen, lassen sie in nativem Zustand eine Antigenkreuzreaktion vermissen. Auch ist die enzymatische Aktivität des menschlichen Lysozyms wesentlich höher als die des Hühnereiklar-Lysozyms.
In der normalen Niere findet sich das Lysozym in hohen Konzentrationen, nicht dagegen im normalen Urin. Allerdings schließt eine fehlende Lysozymaktivität im Urin eine tubuläre Schädigung nicht immer aus, grundsätzlich

geht aber eine Schädigung des proximalen Tubulus-Apparates mit einer Lysozym-Urie einher (Tischendorf, 1975).
Auf Grund seines Vorkommens vor allem in den Zellen der myeloischen Reihe und den Monozyten besitzt das Lysozym klinische Bedeutung für die Differentialdiagnose der Leukämien und deren Abgrenzung von den Panmyelopathien.
So finden sich extrem erhöhte PLS bei der Monozytenleukämie und der Monozyten-Myeloleukämie, stark erhöht ist das Lysozym auch bei den myeloischen Leukämieformen, während bei den lymphatischen Leukämien die PLS unter dem Normalwert liegen. Am stärksten erniedrigt ist der PLS bei der Panmyelopathie (Tischendorf, 1975).
Insgesamt läßt sich also sagen, daß Anwendungsgebiete für Lysozym-Aktivitätsbestimmungen vor allem die Hämatologie und die Nephrologie sind. In der Nephrologie sind dies die Nierenerkrankungen mit proximal-tubulären Nierenschäden, in der Hämatologie die Leukosen und ihre Differentialdiagnose.

## 3.0 SPEZIELLE FRAGESTELLUNG

Zwei Fragen sollten in dieser Untersuchung beantwortet werden. Es wurde anfangs diskutiert, ob die Kombination der Serum- bzw. Plasmakonzentrationen eines aus dem entzündlichen Infiltrat kommendem Antigens, wie dem Lysozym, mit einem aus dem regenerierenden Darmepithel stammenden Antigen, wie dem CEA, eine Unterscheidung von Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, wie dem M.Crohn und der Colitis ulcerosa, von Gesunden und von Patienten mit anderen entzündlichen Darmerkrankungen erlaubt.

Eine weitere kontroverse Frage war die, ob mit diesen Antigenen eine Beurteilung der Aktivität möglich ist.
Deshalb untersuchten wir die Lysozymkonzentration und die CEA-Konzentration im Plasma von Patienten mit M.Crohn, Colitis ulcerosa und anderen entzündlichen Darmerkrankungen und von gesunden Kontrollpersonen.

Die drei Fragestellungen dieser Studie waren wie folgt:

1. a) Ist die Lysozym-Konzentration bei Patienten mit chronisch entzündlichen Darmerkrankungen, v.a. bei M.Crohn gegenüber Normalpersonen verändert?
1. b) Besteht im positiven Fall eine Abhängigkeit von der Krankheitsaktivität?
2. Läßt sich die Plasmalysozymkonzentration zur Differentialdiagnose von M.Crohn und Colitis ulcerosa verwenden?

3. Gibt die Lysozymbestimmung einen zusätzlichen Informationswert neben dem CEA zur Aktivitätskontrolle chronisch entzündlicher Darmerkrankungen?

## 4.0 METHODIK

Es gibt drei verschiedene Arten, Lysozym zu bestimmen:

1.) Zwei enzymatische Methoden
   a) Turbidimetrische Methode (Tischendorf, 1975)
   b) Lysoplatten-Methode von Osserman (Osserman et al., 1966)
2.) Immunologische Verfahren, vor allem die radiale Immundiffusion

In unserer Untersuchung wurde die Methode mit Hilfe der radialen Immundiffusion nach Mancini angewendet. Als Standard diente ein uns freundlicherweise von Herrn Dr. Becker (Behringwerke Marburg) zur Verfügung gestelltes, von Patienten mit Monozytenleukämie isoliertes hochgereinigtes humanes Lysozym.

Zur Durchführung unserer Versuche verwendeten wir ringförmige Immundiffusionsplatten der Behringwerke. Um sowohl die für unsere Untersuchungen günstigste Antiserum-, als auch Antigenkonzentration herauszufinden, führten wir verschiedene Vorversuche durch.
In einer ersten Versuchsreihe erhitzten wir 50 ml sterile 0,9 %ige Kochsalzlösung, in die wir 0,5 g Agarose (Behringwerke) eingerührt hatten, im Wasserbad bis auf 100°C. Anschließend kühlten wir diese Lösung bis auf 36°C ab und gaben dann unter ständigem Rühren 0,5 ml Anti-Human-Lysozym-Serum (Behringwerke) zu.
Von dieser 1 %igen Agarose mit 1 % Antiserumgehalt gaben wir in 2 Immundiffusionsplatten

8 ml, in zwei weitere 10 ml, um das Diffusionsverhalten, vor allem die Intensität der Präzipitationsringe bei verschiedenen Schichtdicken prüfen zu können. Nach dem Erkalten stanzten wir in die Agargelschicht jeweils vier Löcher mit einem Durchmesser von 4 mm und vier Löcher mit 2 mm Durchmesser pro Platte.
Von einem unverdünnten M. Crohn-Patientenplasma gaben wir in die 4 mm-Löcher jeweils einer Platte mit 10 ml Agarose mit Hilfe einer 15 µl Eppendorf-Pipette nacheinander in ein Loch 30 µl, in ein weiteres 60 µl und in ein letztes 120 µl Patientenplasma, wobei wir die nächsten 15 µl immer dann zupipettierten, wenn die vorher gegebenen gerade abdiffundiert waren.
Von dem selben Patientenplasma fertigten wir anschließend eine Verdünnungsreihe an, wobei das Plasma 1:1, 1:2, 1:4 und 1:8 mit steriler physiologischer Kochsalzlösung verdünnt wurde. Von diesen Verdünnungen gaben wir jeweils 5 µl in die 2 mm-Löcher unserer Agargelplatten. In gleicher Weise beschickten wir die zwei übrigen Platten mit einem aus 100 gesunden Normalplasmen gebildeten Plasmapool, der uns freundlicherweise vom nephrologischen Labor der Medizinischen Universitätsklinik Würzburg zur Verfügung gestellt wurde.
Beim Ausmessen der Diffusionsringe nach 48 Stunden zeigte sich, daß die Antigenkonzentration der Plasmen aus der Verdünnungsreihe so gering war, daß kein sichtbarer Präzipitationsring entstanden war. Ebenso zeigten sich keine ablesbaren Präzipitationsringe in den Platten, die mit 10 ml 1 %iger Agarose gefüllt waren. Besser ablesbar waren die Präzipitationsringe dagegen in denjenigen Platten, die mit

8 ml 1 %iger Agarose gefüllt und mit unverdünntem Plasma beschickt worden waren.
Da aber auch hier das Ablesen der Präzipitationsringe sehr schwierig war, da die Präzipitationsringe sehr schwach ausgebildet waren, versuchten wir in weiteren Vorversuchen herauszufinden, ob durch eine Erhöhung der Antiserumkonzentration eine Verbesserung der Ablesbarkeit zu erreichen war.
Wir gossen in verschiedenen Versuchen jeweils drei Immundiffusionsplatten, von denen eine mit 1 %, die zweite mit 2 % und die dritte mit 3 % Antiserum in der 1 %igen Agarose gefüllt wurde. Nachdem wir auch diese Versuche in der oben beschriebenen Weise durchgeführt hatten, zeigte sich, daß die besten Präzipitationsringe bei 2 %iger Antiserumkonzentration zu beobachten waren. Die Ablesbarkeit war am besten, wenn wir 60 µl Patienten- bzw. Poolplasma einpipettierten. Deshalb wurden alle weiteren Bestimmungen des PLS in folgender Weise durchgeführt:

1.) In jede Immundiffusionsplatte gaben wir 8 ml 1 %iger Agarose, deren Antiserumkonzentration 2 % betrug.
2.) Von jedem Patienten und von jeder gesunden Kontrollperson pipettierten wir jeweils 45 µl in ein und 60 µl Plasma in ein zweites 4 mm großes Loch.
3.) Nach 48 Stunden wurde abgelesen und aus den senkrecht nebeneinander stehenden zwei Durchmessern der Präzipitationsringe mit 45 bzw. 60 µl Plasmaeingabe das arithmetische Mittel der Durchmesser errechnet.

Zum Erhalt der absoluten Plasma-Lysozymkonzentration erstellten wir mit Hilfe des reinen Humanlysozyms der Behringwerke eine Eichkurve in folgender Weise:

1.) Wir lösten 3 mg Humanlysozym in 100 ml Phosphat-gepufferter Kochsalzlösung (PBS) und hatten somit eine Stocklösung mit einer Konzentration von 30 µg Lysozym pro ml Lösung.

2.) Danach fertigten wir eine Verdünnungsreihe nach folgendem Schema an:

| | | |
|---|---|---|
| Lösung 1: | 1,0ml Stock + 6,5ml PBS | Konz.: 4,0 µg/ml |
| " 2: | 1,0ml Lsg.1 + 1,0ml Lsg.3 | " : 3,5 µg/ml |
| " 3: | 1,5ml Lsg.1 + 1,5ml Lsg.5 | " : 3,0 µg/ml |
| " 4: | 1,0ml Lsg.3 + 1,0ml Lsg.5 | " : 2,5 µg/ml |
| " 5: | 3,0ml Lsg.1 + 3,0ml PBS | " : 2,0 µg/ml |
| " 6: | 0,5ml Lsg.7 + 0,5ml Lsg.5 | " : 1,5 µg/ml |
| " 7: | 2,0ml Lsg.5 + 2,0ml PBS | " : 1,0 µg/ml |
| " 8: | 1,0ml Lsg.7 + 1,0ml PBS | " : 0,5 µg/ml |

3.) Von diesen Lösungen pipettierten wir jeweils 45 µl und 60 µl in die 4 mm großen Löcher unserer Immundiffusionsplatten und gaben außerdem noch die gleichen Mengen des Plasmapools in zwei weitere Löcher.

4.) Nach 48 Stunden lasen wir in oben beschriebener Weise ab und erhielten als Durchschnitt der beiden Präzipitationsringe z.B. folgende Werte:

Lösung 1 : 8,58 mm
Lösung 2 : 8,20 mm
Lösung 3 : 7,93 mm
Lösung 4 : 7,73 mm
Lösung 5 : 7,43 mm
Lösung 6 : 6,93 mm
Lösung 7 : 6,55 mm
Lösung 8 : 6,25 mm
Pool : 7,0 mm

Diese Werte trugen wir in ein Koordinatensystem ein, wobei wir auf der Ordinate die Lysozymkonzentration in µg/ml und auf der Abszisse den Durchmesser der Präzipitationsringe in mm abtrugen. (Abb. 1)

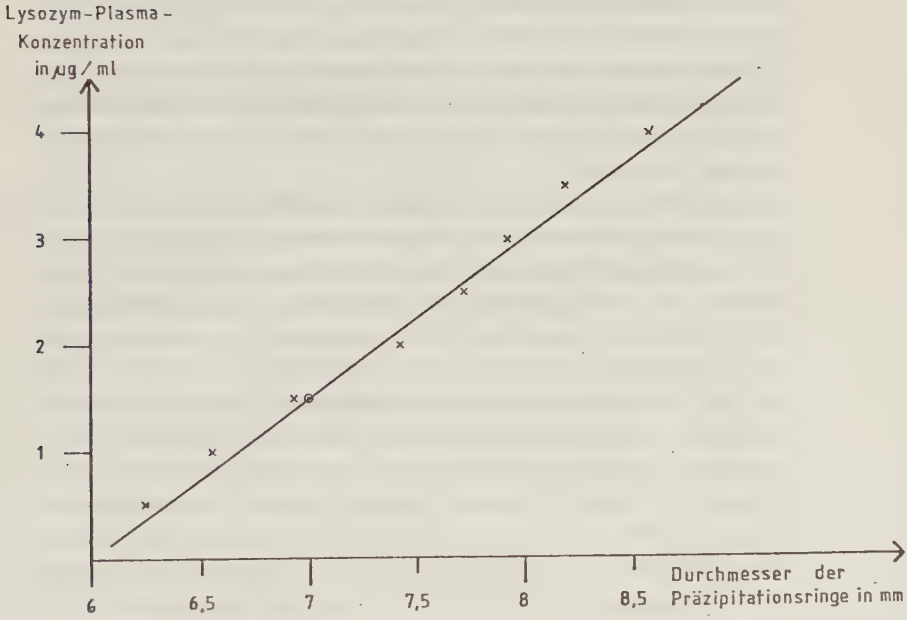


Abb. 1: Eichkurve für die Bestimmung der absoluten Konzentration des Lysozyms aus dem Durchmesser der Präzipitationsringe.
Durchmesser für den Plasmapool 7,0 mm

Da diese Werte eine hinreichend genaue Linearität ergaben, konnten wir eine Eichkurve zeichnen, wobei sich für den Pool mit 7,0 mm Durchmesser ein Lysozymwert von 1,5 µg pro ml ergab. Dieser Pool lief als Referenzplasma bei jeder Bestimmung mit. Der Poolwert unterlag in unseren verschiedenen Bestimmungen Schwankungen von 6,8 bis 7,1 mm Durchmesser.
So konnten wir für jede Bestimmung eine eigene Eichkurve erstellen und die Höhe des jeweiligen PLS an der Eichkurve ablesen.
Die Aktivität der Crohnschen Erkrankung wurde nach einem Index der National Cooperative Crohn's Disease Study der USA (Best et al., 1976) aus folgenden Parametern berechnet:
Anzahl der weichen Stühle oder Durchfälle in der letzten Woche x 2 plus Grad der Bauchschmerzen (0 = keine, 1 = leicht, 2 = mäßig, 3 = stark; Summe über eine Woche) x 5 plus Allgemeinbefinden (0 = im Allgemeinen gut, 1 = nicht ganz gut, 2 = schlecht, 3 = sehr schlecht, 4 = unerträglich; Summe über eine Woche) x 7 plus andere mit M. Crohn assoziierte Symptome wie: Gelenkschmerzen und/oder Arthritis, Iritis und/oder Uveitis, Erythema nodosum, Pyoderma gangränosum, Stomatitis aphtosa, Analfissur, -fistel, -abszeß, andere Fisteln, Temperaturen über 37,5°C in der letzten Woche (Anzahl der zutreffenden Symptome) x 20 plus 30, falls symptomatische Durchfallbehandlung erfolgte; plus Resistenz im Abdomen (nein = 0, fraglich = 2, sicher = 3) x 10 plus Hämatokrit (Frauen 42 - HKT, Männer 47 - HKT) x 6 plus Gewicht

$$1-\left(\frac{\text{Gewicht}}{\text{Standardgewicht}}\right) \times 100$$

Bei Patienten mit Colitis ulcerosa bestimmten wir den Aktivitätsindex (CUAI) auf ähnliche Weise.
Die Plasma-CEA-Konzentration wurde mit dem Radio-Immunoassay nach Hansen (Gold et al., 1971; Khoo et al., 1973) bestimmt. Dieser Test ist als CEA-Roche-Test auf dem deutschen Markt im Handel (Firma Hoffmann-La Roche & Comp. AG, Diagnostica 4133 Schweizerhalle).

Mittelwerte ($\bar{x}$) und Standardabweichung (SD) wurden für alle Kollektive berechnet.
Zur Prüfung der statistischen Signifikanzen wurde der Mann-Whitney-Test angewendet, wobei Unterschiede dann als signifikant angesehen wurden, wenn $p < 0{,}05$ war.

Korrelationen zwischen verschiedenen Kollektiven wurden mit Hilfe des Spearman'schen Korrelationskoeffizienten (SR), und im Falle einer Normalverteilung der Variablen mit der Regressionsanalyse ermittelt.

## 5.0 KOLLEKTIVE

Gruppe CD: Wir führten 42 Untersuchungen bei Patienten mit M. Crohn im Alter von 18 bis 59 Jahren (14 Frauen, 28 Männer) durch.

Gruppe CU: 19 Untersuchungen führten wir bei Patienten mit Colitis ulcerosa im Alter zwischen 17 und 51 Jahren (8 Frauen, 11 Männer) durch.

Gruppe E: Wir untersuchten 8 Patienten mit anderen Darmerkrankungen entzündlicher Genese im Alter zwischen 8 und 43 Jahren (3 Frauen, 5 Männer).

Gruppe N: Das Normalkollektiv für die Lysozymuntersuchung bestand aus 14 gesunden Personen im Alter von 24 bis 60 Jahren (5 Frauen, 9 Männer).
Für die CEA-Untersuchung stand uns ein Normalkollektiv von 23 Frauen und 28 Männern zur Verfügung.

## 6.0 ERGEBNISSE

### 6.1 Lysozym- und CEA-Plasmakonzentrationen in den Kollektiven

#### 6.1.1 Plasmakonzentrationen bei gesunden Kontrollpersonen

a.) Lysozym: Unter Verwendung der radialen Immundiffusion ergab die Lysozymbestimmung einen Mittelwert von 1,43 µg/ml ± 0,21 SD mit einem Streubereich von 1,10 bis 1,73 µg/ml (Abb. 2a).

b.) CEA: Beim CEA ergab sich im Normalkollektiv ein Mittelwert von 1,92 ng/ml ± 1,02 SD mit einem Streubereich von 0,0 bis 4,0 ng/ml (Abb. 2b).

#### 6.1.2 Plasmakonzentrationen bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen

a.) Lysozym: Der Mittelwert für das Gesamtkollektiv CD + CU war 2,33 µg/ml ± 0,79 SD mit einem Streubereich von 0,74 bis 3,88 µg/ml, dabei war der Mittelwert der M. Crohn-Patienten 2,40 ± 0,82 SD Streubereich von 0,74 bis 3,88 µg/ml), derjenige der Colitis ulcerosa-Patienten 2,16 µg/ml ± 0,71 SD (Streubereich von 1,28 bis 3,28 µg/ml).
In der Gruppe E (Patienten mit sonstigen entzündlichen Darmerkrankungen) betrug der Mittelwert 2,23 µg/ml ± 0,48 SD (Streubereich von 1,72 - 2,78 µg/ml) (Abb. 2a).

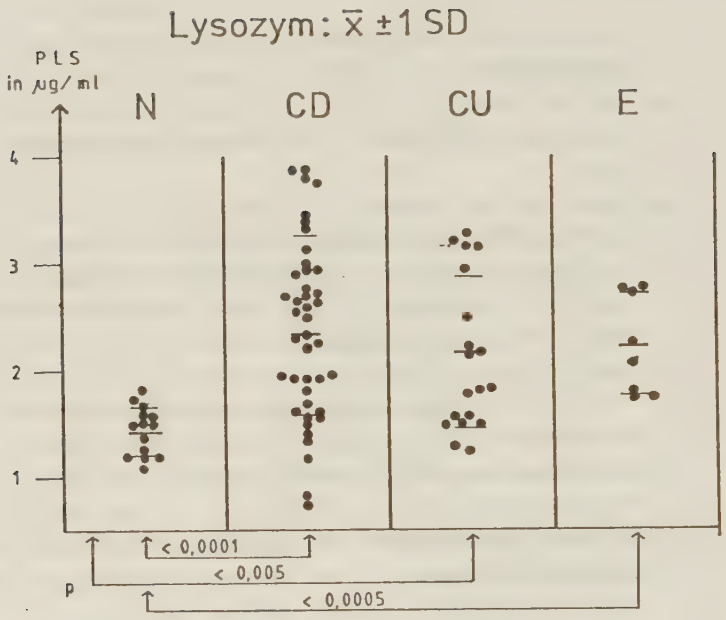


Abb. 2a: Verteilung der Lysozymwerte in den Kollektiven von Patienten mit M. Crohn (CD), Colitis ulcerosa (CU), anderen entzündlichen Darmerkrankungen (E) und Gesunden (N).

Wie die Abb. 2a zeigt, lagen somit die Lysozymkonzentrationen sowohl in der Gruppe CD als auch in der Gruppe CU, aber auch in der Gruppe E signifikant über den Lysozymkonzentrationen der gesunden Kontrollpersonen. Verglich man dagegen die einzelnen Patientengruppen untereinander, so waren keine signifikanten Unterschiede festzustellen.

b.) CEA: Der Mittelwert für das Gesamtkolletiv von M. Crohn und Colitis ulcerosa-Patienten betrug 2,40 ng/ml ± 1,56 SD bei einem Streubereich von 0,0 bis 6,1 ng/ml.
Dabei lag der Mittelwert der M. Crohn-Patienten bei 2,53 ng/ml ± 1,56 SD (Streubereich von 0,0 bis 6,1 ng/ml), derjenige der Colitis ulcerosa-Patienten bei 2,16 ng/ml ± 1,57 SD (Streubereich von 0,0 bis 5,0 ng/ml).
Der Mittelwert der Gruppe E betrug 1,26 ng/ml ± 0,87 SD (Streubereich von 0,2 bis 2,6 ng/ml).

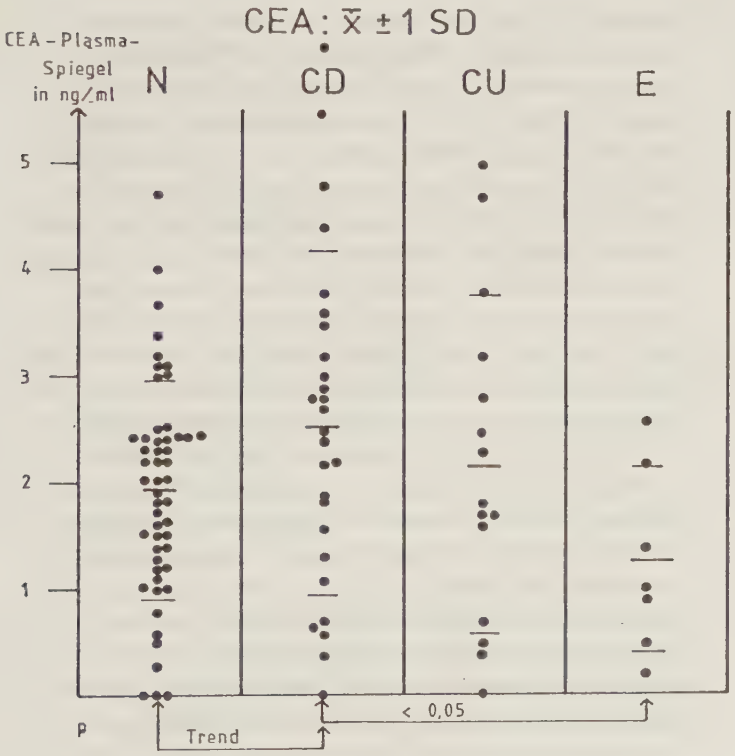


Abb. 2b: Verteilung der CEA-Werte in den Kollektiven von Patienten mit M. Crohn, Colitis ulcerosa, anderen entzündlichen Darmerkrankungen und Gesunden

Wie Abb. 2b zeigt, findet sich bei den Plasma-CEA-Konzentrationen ein signifikanter Unterschied ($N = 34$, $p < 0,05$) nur im Vergleich der Gruppe CD mit der Gruppe E. Beim Vergleich der Patienten mit entzündlichen Darmerkrankungen mit dem gesunden Kontrollkollektiv zeigten sich außer eines gewissen Trends zur Signifikanz zwischen der Gruppe CD und dem Normalkollektiv keine signifikanten Unterschiede.

6.2 CEA- und Lysozymkonzentrationen in Abhängigkeit von der Aktivität der Erkrankung

6.2.1 Wurden M. Crohn-Patienten mit hoher Krankheitsaktivität (CDAI > 200) solchen mit inaktiver in Remission befindlicher Erkrankung gegenübergestellt (CDAI ≤ 110), so zeigten aktive Crohn-Patienten signifikant höhere Lysozymkonzentrationen als inaktive Patienten ($N = 29$, $p < 0,005$). Diese aktivitätsabhängige Erhöhung des PLS wurde bereits deutlich, wenn man Patienten mit geringer Aktivität (CDAI < 110) solchen mit mäßiger und hoher Aktivität (CDAI > 110) gegenüberstellte ($N = 39$, $p < 0,005$). Ebenso verhielt es sich, wenn man die Gruppe der Patienten mit einem CDAI ≤ 150 derjenigen mit einem CDAI > 150 gegenüberstellte ($N = 39$, $p < 0,005$). Patienten mit mittelhoher Aktivität von 111 bis 200 zeigten im Vergleich mit solchen mit einem CDAI ≤ 110 eine geringere, jedoch immer noch signifikante Erhöhung des PLS ($N = 26$, $p < 0,05$).
Bei den Colitis-Patienten hingegen lag zwar im Kollektiv mit höherer Aktivität ein Trend zu höheren Lysozymwerten vor, bei starker Streuung dieser Werte war der Unterschied jedoch weit von einer statistischen Signifikanz entfernt (Abb. 3a).

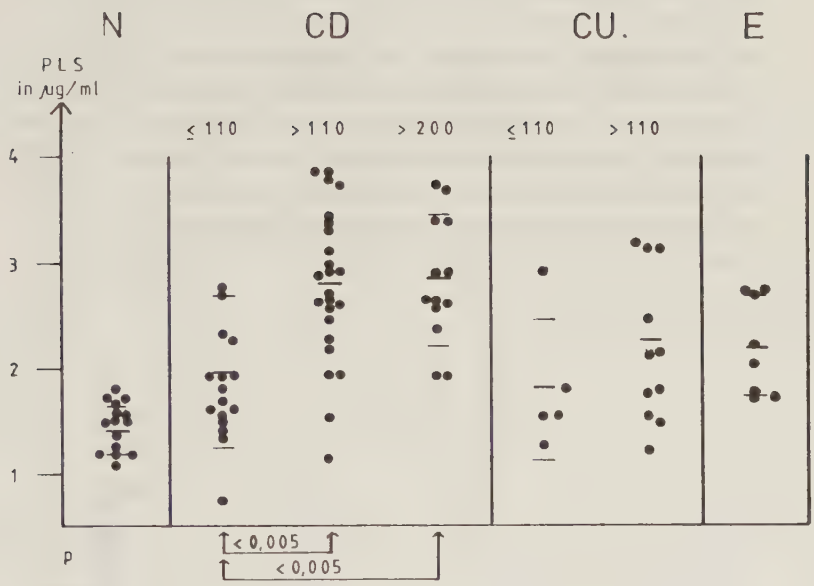


Abb. 3a: Lysozymwerte in Abhängigkeit von der Aktivität für alle Kollektive

6.2.2 M. Crohn-Patienten mit einem CDAI > 200 hatten signifikant höhere Plasma-CEA-Spiegel als Patienten mit einem CDAI ≤ 110 (N = 16, $p < 0{,}005$). Ebenso hoch war die Signifikanz des Unterschiedes, wenn man die Grenze des CDAI bei 150 ansetzte (N = 25, $p < 0{,}005$). Ebenfalls noch recht hohe Signifikanz des Unterschieds zeigte sich, wenn

die Patienten mit einem CDAI $\leq$ 110 denen mit einem CDAI > 110 gegenübergestellt wurden (N = 25, $p < 0{,}05$).
Bei den Colitis-Patienten lag ebenso wie beim Lysozym zwar im Kollektiv mit höherer Aktivität ein Trend zu höheren CEA-Werten vor, bei starker Streuung dieser Werte und angesichts der kleinen Kollektivgröße war der Unterschied jedoch weit von einer statistischen Signifikanz entfernt (Abb. 3b).

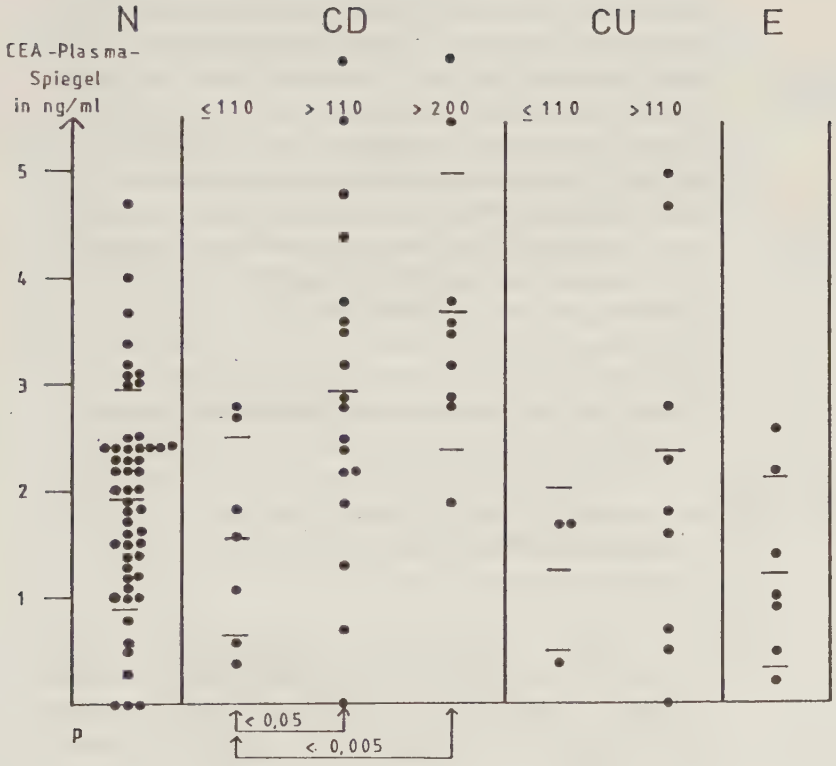


Abb. 3b: CEA-Werte in Abhängigkeit von der Aktivität in allen Kollektiven

6.2.3 Entsprechend fand sich eine hoch positive Korrelation zwischen dem CDAI und dem CEA, bzw. zwischen dem CDAI und dem Lysozym bei den Crohn-Patienten (Lysozym: N = 39, r = 0,495, $p < 0,01$; CEA: N = 25 r = 0,646, $p < 0,001$), nicht jedoch bei den Colitiden (Lysozym: N = 16, r = 0,4875, $p < 0,10$; CEA: N = 12, r = 0,482, $p < 0,10$).
Wurden jedoch das Lysozym und das CEA mit der Aktivität ausschließlich bei Colitis-Patienten, die nicht unter Therapie standen, korreliert, so fand sich eine signifikante Korrelation zwischen dem Lysozym und dem CUAI ($p < 0,05$), nicht aber zwischen dem CEA und dem CUAI.

6.2.4 Beim Vergleich der BSG der ersten und zweiten Stunde mit der Krankheitsaktivität der Crohn- und Colitis-Patienten zeigte sich keine Signifikanz.

6.3 Es bestand bei allen Patientenkollektiven K E I N E Korrelation zwischen dem PLS und der Höhe des Plasmaspiegels des CEA!!!!

6.4 Die Summe der beiden Antigenkonzentrationen zeigte jedoch bei den M. Crohn-Patienten eine hochsignifikante, weit über der Signifikanz der Einzelantigene liegende Korrelation mit der Aktivität der Erkrankung (N = 25, r = 0,7995, $p < 0,0001$).
(Abb. 4)

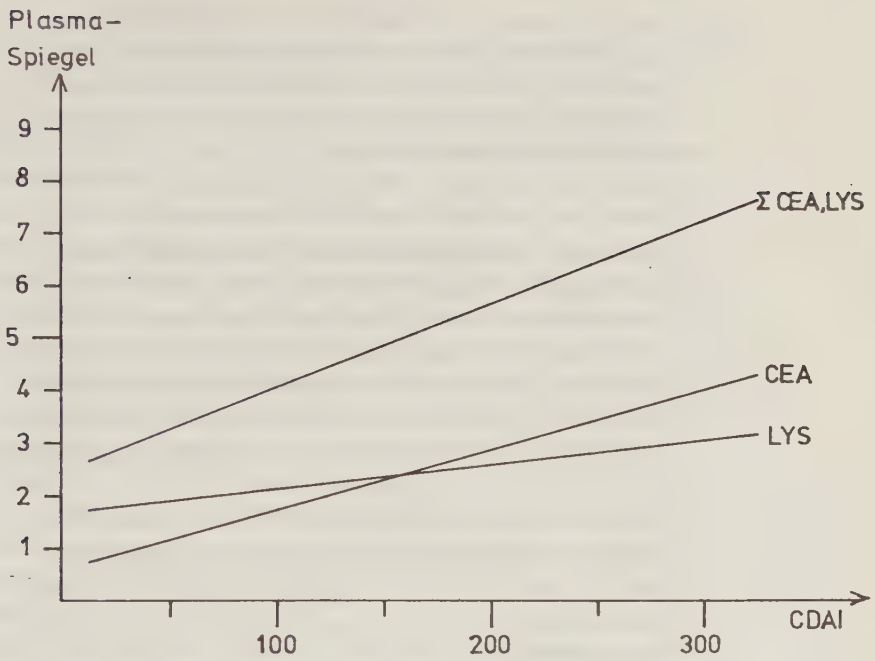


Abb. 4: Regressionsgeraden für die Korrelation zwischen den Plasmaspiegeln von CEA (N = 25, r = 0,646, p< 0,001), Lysozym (LYS: N = 39, r = 0,495, p< 0,01) und der Summe beider Antigene (N = 25, r = 0,7995, p < 0,0001) und der Aktivität der Erkrankung bei M. Crohn-Patienten

Bei der Colitis ulcerosa dagegen fand sich kein Zusammenhang zwischen der Konzentration der Einzelantigene und der Aktivität der Erkrankung.

Auch zwischen der Summe der Einzelantigene und der Aktivität bestand keine signifikante Korrelation ($p < 0,10$). Auch Untersuchungen in den einzelnen Aktivitätsuntergruppen zeigten keine statistische Signifikanz.

6.5 Wurde bei den Colitis-Patienten zusätzlich zur Aktivität die Ausdehnung der Erkrankung berücksichtigt, so zeigte sich ein deutlicher, die statistische Signifikanz knapp verfehlender Trend zu höheren CEA- und Lysozymwerten bei aktiven Patienten mit zunehmender Ausdehnung der Erkrankung. Wegen der kleinen Kollektivgröße erreichte dieser Trend jedoch keine statistische Signifikanz.

6.6 Setzte man die BSG mit dem PLS in Korrelation, so zeigte die BSG bei den Crohn-Patienten sowohl nach der ersten Stunde ($p < 0,02$) als auch nach der zweiten Stunde ($p < 0,05$) eine statistiche Signifikanz.
Bei der Colitis ulcerosa war keine Signifikanz festzustellen.
Gerade umgekehrt verhielt es sich beim CEA. Während bei der Colitis ulcerosa die BSG nach der ersten Stunde mit dem CEA-Spiegel signifikant korrelierte ($p < 0,05$) und nach der zweiten Stunde immerhin noch ein Trend zur Signifikanz zu erkennen war, ließen die M. Crohn-Patienten eine statistisch signifikante Korrelation zwischen BSG und CEA-Spiegel vollständig vermissen.

## 7.0 DISKUSSION

### 7.1 Lysozym in Korrelation zum Aktivitätsindex

Diese Untersuchung zeigte, daß entgegen der Mitteilung von Falchuck et al., (1975) kein signifikanter Unterschied im PLS zwischen Patienten mit M. Crohn und solchen mit Colitis ulcerosa zu erkennen ist. Des weiteren machte diese Untersuchung deutlich, daß innerhalb der Gruppe der M. Crohn-Patienten eine deutliche Korrelation der Höhe des PLS mit dem CDAI besteht. Dabei lagen die Lysozymwerte der aktiven Crohn-Patienten signifikant über denen der gesunden Kontroll-Personen, während bei den Patienten mit inaktiver in Remission begriffener Erkrankung dies nicht der Fall war. Somit wird deutlich, daß Vergleiche von M. Crohn-Kollektiven an sich mit gesunden Kollektiven wenig sinnvoll sind, wenn nicht die Aktivität der Erkrankung berücksichtigt wird.
Bei der Colitis ulcerosa ließ sich ein Trend zu einem ähnlichen Verhalten erkennen, wenn auch deutlich weniger ausgeprägt.
Die Erhöhung des PLS kann verschiedene Ursachen haben, zum Einen durch vermehrte Anzahl von Makrophagen, durch Erhöhung der Zahl der polymorphkernigen neutrophilen Leukozyten (siehe Anwendung in der Hämatologie), dann auch durch Vermehrung der Monozyten (Monozytenleukämie).

In den Granulomen der Crohnschen Erkrankung fand Mason eine vermehrte Lysozymaktivität inEpitheloid- und Riesenzellen, ebenso wie in den Granula der Panethschen Zellen, die bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen vermehrt sind. Vantrappen et al. und Klockars et al., (1974) bestätigten den Nachweis von Lysozym in Panethzellen von Tieren. Die Eigenschaft dieses Paneth-Zellen-

Lysozyms und die Funktion dieser Zellen ganz allgemein ist jedoch nach wie vor unklar. (Röllinghoff et al., 1977).

## 7.2 CEA in Korrelation zum Aktivitätsindex

Damit verhält sich das Lysozym ähnlich wie das CEA, das eine Erhöhung vor allem durch einen erhöhten Turnover der Epithelzelle des Colons erfährt. Da dieser Turnover sowohl bei Malignomen als auch bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen des Darmtraktes erhöht ist, lag die Vermutung nahe, daß bei diesen Erkrankungen die CEA-Plasmatiter erhöht seien, was in jüngeren Untersuchungen auch belegt wurde. (Hansen et al., 1974; Auer et al., 1976)
Auer et al. (1976) zeigten, daß die Plasma-CEA-Konzentrationen bei Patienten mit M. Crohn in Abhängigkeit zur Aktivität der Erkrankung steht, bei Patienten mit Colitis ulcerosa eine Abhängigkeit zur Aktivität nur gefunden wird, wenn die Ausdehnung der Erkrankung gleichzeitig berücksichtigt wird. (Auer et al., 1976)

Bei unserer Untersuchung wurde deutlich, daß beide Parameter zwar mit der Aktivität korrelierten, aber untereinander keine signifikante Korrelation erkennen ließen! Dies bedeutet, daß beide Parameter von unterschiedlichen Prozessen ihren Ausgang nehmen, wie oben bei der pathophysiologischen Entstehung der erhöhten Lysozym- bzw. CEA-Werte bereits diskutiert wurde. Somit läßt sich bei den M. Crohn-Patienten erwarten, obwohl jeder Parameter einzeln mit dem CDAI korreliert, beide Parameter aber nicht miteinander korrelieren,

daß die gleichzeitige Verwendung beider Antigene zur Aktivitätsbestimmung die Aussagekraft wesentlich erhöhen kann.
Vor diesem Hintergrund erschien es von Bedeutung zu sehen, ob ein artefizieller Meßparameter, der beide Werte berücksichtigt, eine schärfere Aussage zur Krankheitsaktivität erlaubt, als die beiden Einzelparameter getrennt.
In der Tat zeigte die kombinierte Verwendung, d.h. die Summe von CEA und Lysozym, bei den M. Crohn-Patienten diesen deutlichen Vorteil.
Bei der Colitis ulcerosa zeigte sich nur ein Trend, der von einer statistischen Signifikanz jedoch weit entfernt war.
Somit stellt die gleichzeitige Bestimmung der CEA- und Lysozym-Plasmakonzentration einen aussagehaltigen Parameter zur Beurteilung der Krankheitsaktivität bei M. Crohn dar. Dies ist von unmittelbar praktisch klinischer Bedeutung.

## 8.0 ZUSAMMENFASSUNG

Diese Untersuchung zeigte, daß

1.) beim M. Crohn eine aktivitätsabhängige Erhöhung der Plasma-Lysozymkonzentration eintritt, wie dies bekanntlich auch beim CEA der Fall ist

2.) beim M. Crohn in der Kombination von Lysozym und CEA ein klinisch diagnostischer Parameter vorliegt, der die Aussagekraft der Einzelantigen-Konzentrationen hinsichtlich der Beurteilung der Aktivität der Erkrankung wesentlich erhöht.

3.) die Plasma-Lysozymkonzentration zwischen M. Crohn und Colitis ulcerosa nicht verschieden ist.

## 9.0 LITERATURVERZEICHNIS

Auer, I.O., Schmid, L., Ziemer, E., Sommer, H., Epping, J.: Die klinische Wertigkeit der Plasma-CEA-Konzentration zur Aktivitätskontrolle chronisch entzündlicher Darmerkrankungen.
Z. Gastroenterol., Verhandlungsband 11, (1976), 109-111

Auer, I.O., Münch, L., Epping, J., Schmid, L: Die klinische Aussagekraft der Plasmakonzentration des karzinoembryonalen Antigens (CEA) bei der Erstdiagnose von Malignomen des Verdauungstraktes.
Z. Gastroenterol. 15, (1977), 491-503

Best, W.R., Becktel, J.M., Singleton, J.W., Kern, F.: Development of a Crohn's disease activity index. National Cooperative Crohn's disease Study.
Gastroenterology 70, (1976), 439-444

Falchuk, K.R., Perotto, J.L., Isselbacher, K.J.: Serum lysozyme in Crohn's disease and ulcerative colitis. New Engl. J. Med. 292, (1975), 395-397

Falchuk, K.R., Perotto, J.L., Isselbacher, K.J.: Serum lysozyme in Crohn's disease. A usefull index of disease activity. Gastroenterology 69, (1975) 893-896

Fleming, A.: On a remarkable bacteriolytic element found in tissues and secretions. Proc. R. Soc. Lond. 93, (1922), 306-317

Gardner, R.C., Feinerman, A.E., Kantrowitz, P.A., Zamcheck, N.: CEA-titers and ulcerative colitis. Gastroenterology 68, (1975), 897 (abstr.)

Gold, J.M., Freedman, S.O., Gold, P.: Human anti CEA antibodies detected by immuno-electrophpresis. Nature (Lond.) Nex. Biol. (1971), 239/60

Hansen, H.J., Snyder, J.J., Miller, E., Vandevoorde, J.P., Miller, O.N., Hinses, L.R., Burns, J.J.: Carcinoembryonic antigen (CEA) assay. A laboratory adjunct in the diagnosis and management of cancer. Human Pathol. 5 (1974), 139-147

Khoo, S.K., Warner, N.L,, Lie, J., Mackay, J.R.: Carcinoembryonic antigen activity of tissue extracts. A quantitative study of malignant and benigne neoplasma, cirrhotic lever, normal adult and fetal organs. Int. J. Canc. 11, (1973), 681

Klockars, M., Osserman, E.F.: Localisation of lysozyme in normal rat tissues by an immunoperoxidase method. J. Histochem. Cytochem. 22, (1974), 139-146

Mason, D.J., Taylor, C.R.: The distribution of lysozyme in human tissues. J. clin. Path. 28, (1975), 124-132

Müller, B.: Quantitative determination of lysozyme. Methods and normal range. Proc. 5th Int. Symp. on Clin. Enz., II, (1973) 317-326

Ossermann, E.F., Lawlor, D.P.: Serum and urinary lysozyme in monocytic and monomyelocytic leukemia. J. Exp. Med. 124, (1966), 921-952

Pascual, R.S., Gee, J.B.L., Finch, S.C.: Usefulness of serum lysozyme measurement in diagnosis and evaluation of sarcoidosis. N. Eng. J. Med. 289, (1973) 1074-1976

Perillie, P.E., Khan, K., Finch, S.C.: Serum lysozyme in pulmonary tuberculosis. Amer. J. Med. Sci. 265, (1973), 297-302

Peeters, T.L., Geboes, K., Vantrappen, G.R.: Serum lysozyme levels in Crohn's disease. New Engl. J. Med., (1975), 1349

Peeters, T.L., Vantrappen, G.R., Geboes, K.: Serum lysozyme levels in Crohn's disease and ulcerative colitis. Gut, (1976), 300-305

Röllinghoff, W., Brandes, J.W., Ehms, H., Miller, B., Schmülling, R.M., Tischendorf, F.W., Malchow, H.: Lysozym bei chronisch entzündlichen Darmerkrankungen. Klin. Wschr. 55, (1977), 225-230

Rule, A.H., Goleski-Reilly, G., Sachar, D.B., Vandevoorde, J., Janowitz, H.D.: Circulating carcinoembryonic antigen (CEA): Relationship to clinical status of patients with imflammatory bowel disease. Gut, 14 (1973), 880-884

Tischendorf, F.W.: Lysozym in Nephrologie und Hämatologie. Behring Laboratoriumsblätter 25, (1975), 70-83

# L e b e n s l a u f

| | |
|---|---|
| Name: | Gregor Schomacher |
| Geboren am: | 6. September 1949 in Coesfeld |
| Wohnort: | 8630 Coburg, Hohe Str. 28 |
| Religion: | röm.-kath. |
| Eltern: | Hermann Schomacher, Studiendirektor i.R.<br>Klara Schomacher, geb. Kruse |
| Ehefrau: | Dr. Ingrid Schomacher, geb. Wollschläger |
| Schulbesuch: | St. Jacobi Volksschule Coesfeld<br>von 1956 bis 1960 |
| | St. Nepomuk Gymnasium Coesfeld<br>von 1960 bis 1968 |
| Studium: | Universität Münster, Mathematik<br>von 1969 bis 1972 |
| | Universität Würzburg, Medizin<br>von 1972 bis 1979 |
| Berufliche Tätigkeit: | 1.7.1979 bis 30.6.1980<br>Assistent an der chirurgischen Abteilung<br>des Kreiskrankenhauses Lichtenfels |
| | ab 1.7.1980<br>Assistent an der internen Abteilung<br>des Landkrankenhauses Coburg |

Coburg, 24.7.1980

Gregor Schomacher

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80

Dissertationsdruck
Schmitt & Meyer

Würzburg Ludwigkai 28a Tel. 7 23 80